G. Ronchetti
Assistente

A. Fargion
Assistente v.

LA GELATINA REALE DI *APIS MELLIFERA* L., SUA COSTITUZIONE E PROPRIETA' BIOLOGICHE

Cap. 1: *Introduzione.* - Cap. 2: *La gelatina reale nella vita sociale dell'Ape.* - Cap. 3: *Composizione della g.r.* - Cap. 4: *Le vitamine e gli aminoacidi.* - Cap. 5: *Proprietà biologiche.* - Cap. 6: *Conclusioni.* - Cap. 7: *Bibliografia.*

Introduzione.

Sulla *gelatina reale* (g. r) si è sviluppata in questi ultimi decenni una ricca letteratura che tratta l'argomento da un punto di vista naturalistico, chimico, biologico in senso lato, con particolare riferimento alle proprietà farmacologiche, terapeutiche e cosmetiche.

L'esistenza nella letteratura anche di numerosi lavori ispirati a criteri non scientifici e la complessità e l'interesse scientifico dei problemi connessi con la gelatina reale e le sue proprietà, ci hanno indotto ad effettuare un rapido esame delle attuali conoscenze sull'argomento ed a ricavare una sintesi dei dati scientificamente più attendibili forniti dalla letteratura.

La g. r. nella vita sociale dell'Ape.

Nel capo dell'Ape operaia, dorsalmente alla massa cerebrale, si trovano due glandole acinose, simmetriche rispetto alla faringe, denominate dalla loro posizione « glandole faringee laterali o sopracerebrali » i cui dotti efferenti sfociano nella prefaringe; ad esse si deve la elaborazione e secrezione della g. r. o latte delle api, nutrimento di elevato potere nutritivo e di facile assimilazione, costituito principalmente da albuminoidi ricavati dalla digestione del polline.

Le glandole sopracerebrali, rudimentali nella regina, assenti nei maschi, presentano nell'operaia un'attività temporanea, per cui si rin-

vengono completamente evolute e funzionanti soltanto in un determinato periodo della vita dell'ape; esse cominciano a svilupparsi tra il terzo e il quarto giorno di vita, pare a seguito dell'abbondante dieta a base di polline che l'ape osserva durante questi due giorni e che secondo Haydak (1934), come riporta Butler (1949), sarebbe necessaria per lo sviluppo delle suddette glandole, raggiungono il loro sviluppo completo verso il quinto giorno di vita e svolgono la loro attività normale di elaborazione e secrezione della g. r. fino al quattordicesimo giorno, dopo il quale generalmente inizia la loro regressione e termina la produzione di g. r..

In relazione con questo periodo di attività delle glandole sopracerebrali l'operaia, tra il 5° e il 14° giorno di vita svolge nell'alveare, dove la divisione del lavoro rappresenta la regola, la mansione di « nutrice », fornendo pappa reale alle larve destinate a dare origine a regine fino al loro completo sviluppo, a tutte le larve di operaie fino al 3° giorno di vita ed eccezionalmente anche a larve di operaie di età più avanzata e alla regina stessa per tutta la durata della sua vita.

Studi condotti recentemente da Jacoli e Poggioli (1956) e in precedenza da altri AA. sulla composizione della g. r. hanno rivelato che essa varia in relazione ai diversi periodi di vita delle larve alle quali viene somministrata. E' stato inoltre accertato che il periodo di funzionalità delle glandole sopracerebrali non è sempre rigorosamente compreso nei limiti accennati, ma può variare ampiamente se le circostanze lo richiedono, come sembrano attestare i risultati delle esperienze condotte da Rösch; suddividendo le operaie di un alveare in due gruppi, uno composto di operaie giovani: « nutrici », l'altro di operaie anziane: « bottinatrici » e fornendo a ciascun gruppo prole giovane da allevare, egli ha infatti ottenuta la regressione precoce delle glandole sopracerebrali nelle operaie giovani che per necessità divennero bottinatrici anzitempo e il riattivamento delle glandole sopracerebrali già inattive nelle operaie anziane ridivenute nutrici.

La continua somministrazione di g. r. ad alcune larve normali femminili della covata fino al loro completo sviluppo sembra responsabile dello sviluppo di queste larve in regine ossia in femmine feconde alle quali è affidata la perpetuazione della società; le altre larve che vengono nutrite di g. r. solo per i primi tre giorni di vita danno origine infatti a operaie, ossia a femmine sterili, pur essendo nate come le precedenti da uova fecondate. Alle qualità nutritive della g. r. sembra si possa attribuire inoltre la maggior rapidità del ciclo di sviluppo della regina che raggiunge lo stadio imaginale in genere dopo 16 giorni di

vita mentre l'operaia ne impiega circa 20, il suo maggior peso che risulta doppio di quello di un'operaia e la sua longevità eccezionale di circa 5 anni di vita di fronte alle sei settimane circa di un'operaia non ibernante.

Su queste proprietà biologiche della g. r. sono state compiute da vari AA. numerosi studi; prove di allevamento artificiale di giovani larve normali femminili condotte somministrando in continuità g. r. senza intervento di api nutrici, hanno fornito a Rhein (1933) e a Butler (1955), secondo quanto riportano Decourt (1956) e Weaver (1955), imagini di operaie. Al fine di indagare se questi risultati erano dovuti al fatto che i principi attivi non si trovavano presenti nella gelatina somministrata, prelevata dalle celle reali, poichè forniti in natura direttamente alla larva dalla nutrice oppure se erano da attribuirsi alla labilità di queste sostanze e alla impossibilità per la larva di utilizzarle quando la g. r. era conservata per un certo tempo, Weaver (1955) instaurò diverse serie di allevamenti artificiali di giovani larve femminili adottando varie tecniche di alimentazione e somministrando campioni diversi di g. r.; le larve alimentate con g. r. appena prelevata dalla cella reale diedero in genere origine a imagini con caratteri morfologici ed anatomici molto simili a quelli della regina; campioni di g. r. sottoposti a conservazione per periodi da 1 a 4 settimane a temperatura di 5° C e forniti alle larve in allevamento alla normale densità o in diluizione con acqua distillata, hanno originato in genere adulti con caratteri anatomici e morfologici intermedi tra quelli della regina e quelli delle operaie, mentre campioni di g. r. tenuta per poche settimane a 5° C e somministrata dopo essiccazione, oppure conservata per un anno a 5° C fino alla somministrazione a normale densità hanno dato origine in genere a individui con maggioranza di caratteri ergatomorfi. Sembra quindi che le sostanze della g. r. responsabili della determinazione e regolamentazione dei caratteri di regina o parti essenziali di esse, pur essendo presenti nella g. r. deposta nella cella reale, siano molto labili oppure non possano essere utilizzate dalle larve quando la gelatina reale è conservata da tempo, secondo i metodi oggi in uso.

La quantità di pappa reale prodotta ed accumulata in un alveare quando non vi è in preparazione la sostituzione delle regine risulta minima; pure assai debole è la sua produzione quando si ha il rimpiazzamento naturale della regina o la sciamatura, che avvengono in genere una volta all'anno, poichè le poche celle reali apprestate per le nuove regine contengono ciascuna non più di 150-200 mg di g. r.

Le attuali esigenze di g. r. per la preparazione di prodotti farmaceutici e cosmetici, hanno richiesto pertanto la messa a punto di alcuni metodi atti ad ottenere artificialmente una superproduzione di g. r. da ogni alveare, basati sull'orfanizzazione effettiva o apparente di una famiglia.

Un metodo redditizio ma complicato per l'attrezzatura che esige, consiste nell'introdurre in un alveare orfanizzato, ricco di giovani nutrici, 80-90 cupolette di cera prefabbricate, fissate a telai e di dimensioni convenienti per essere adattate a celle reali, ciascuna contenente sul fondo una giovane larva; le cellette, che le nutrici amplieranno e riempiranno di g. r. allo scopo di ottenere regine in sostituzione di quella asportata, possono essere ritirate dopo tempo variabile ricavandone in una sola operazione che può essere ripetuta più volte in un anno oltre 15 grammi di g. r.

Un altro sistema più semplice del precedente consiste nello sdoppiare la famiglia di api scelta per l'operazione, segregando la regina con parte delle operaie senza giungere alla orfanizzazione delle colonia; nella parte di nido priva di regine le nutrici provvederanno in breve alla costruzione di celle reali ripiene di g. r., mentre nell'altra porzione di nido la regina continuerà la deposizione di uova; dopo 3-4 giorni, prelevata la g. r., si introdurrà in questa parte del nido un favo con covata giovane pronta per la costruzione di nuove celle reali, prelevato dalla porzione di nido con regina; sarà anche possibile spostarvi, invece del favo con covata giovane, la regina stessa che nella nuova sede ricomincerà a deporre uova, mentre nella metà del nido temporaneamente privo di regina e ricco di prole giovane comincerà la costruzione di celle reali e la produzione di g. r. Questa operazione iniziata in aprile-maggio, può protrarsi per tutta l'epoca del raccolto fornendo parecchi grammi di g. r. per alveare senza richiedere particolari attrezzature, abbondante mano d'opera, e senza danneggiare molto la produzione del miele.

Composizione della g. r.

Townsend e Lucas nel 1940 studiarono la composizione chimica della g. r. mediante frazionamento con solventi e metodiche varie, ottennero vari gruppi di sostanze e si ripromisero di studiare più a fondo l'argomento in una successiva serie di ricerche che però non ci risulta sia stata più completata. Le ricerche di Townsend e Lucas, importanti come inizio di frazionamento della g. r. nei suoi costituenti, hanno

portato le seguenti conclusioni: La gelatina reale è stata separata in 4 principali frazioni: 1) solubile in etere; 2) solubile in acqua e dializzabile; 3) solubile in acqua non dializzabile; 4) insolubile in acqua.

La frazione 1) sembra consistere principalmente in un acido organico (o di una miscela di acidi); p. f. 58° C, peso equivalente 178. Sono anche presenti in questa frazione piccole parti di materiale fenolico e piccole parti di cera, sterolo, fosfolipidi e sostanza saponificabile.

La frazione 2), la più abbondante, è costituita da circa il 50% di zuccheri; glucosio e fruttosio costituiscono la maggior parte del materiale riducente. Sono pure presenti un acido non identificabile, sali inorganici e composti azotati.

La frazione 3) è di natura proteica. La distribuzione dell'azoto è stata determinata; furono isolati acido aspartico, arginina e tirosina; le colorazioni per triptofano, cistina e istidina sono positive.

La frazione 4) è una proteina, solubile soltanto in alcali. Essa dà colorazioni positive per tirosina, triptofano e arginina.

Vi è qualche prova che la frazione 1) contiene materiale fisiologicamente attivo responsabile dello sviluppo sessuale dell'Ape regina.

I dati di Townsend e Lucas (1940) ricavati dallo studio della composizione della g. r. prelevata in celle con larve di 2-3 giorni, sono così sintetizzate da Decourt (1956, pag. 1505).

Umidità: da 45 a 55%

Composizione della materia secca:

Parte solubile in etere: da 10 a 15%	Fenoli: da 4 a 10% Acidi non identificati: da 80 a 85% Steroli e gliceridi: da 3 a 4% Cera: da 5 a 6% Fosfolipidi: da 0,4 a 0,8%
Parte solubile in acqua e dializzabile: 55%	Azoto: 1,2% Ceneri: 3,4% Zuccheri riduttori: 50% Acidi non identificabili: 20%
Parte solubile in acqua e non dializzabile: da 15 a 20%	Ceneri: 0,5% Fosforo: 0,3% Zolfo: 0,89% Azoto: 14,9% Acido aspartico: 9,9% Arginina: 10% Tracce di triptofano, cistina, istidina
Proteine insolubili in acqua: 15%	Fosforo: 0,16% Zolfo, tirosina, triptofano, arginina, ecc. Azoto: 13,4%.

Composizione degli zuccheri riduttori:

— Glucosio	42%
— Fruttosio	52%
— Non fermentabili . . .	6%

Ripartizione dell'azoto:

— Parte solubile in acqua non dializzabile:

Azoto ammoniacale	13%
Azoto dell'acido di-carbossilico . .	10%
Azoto basico	21%
Azoto non amino	20%
Azoto mono-amino	35%
Azoto della melanina . . .	1%

— Parte nelle proteine insolubili in acqua:

Azoto non basico 76,37% di cui:	ammoniacale: 5,16% amino: 59,49% della melanina: 3,23%
Azoto basico 14,23%, di cui:	amino: 9,51% dell'istidina: 1,74% di lisina: 4,41% di cistina: 3,28% dell'arginina: 4,77%

Secondo Melampy e Jones (1939) la g. r. prelevata in celle contenenti larve di 3-4 giorni avrebbe la composizione seguente (da Decourt 1956, pg. 1503-4):

Umidità	66,05%
Estratto secco	33,95%
Proteine	12,34%
Grassi	5,4%
Zuccheri riduttori	12,49%
Ceneri	0,82%
Indeterminati	2,84%

Secondo Abbot e French (1940-41) le proteine della g. r. sono costituite da una globulina e una albumina in proporzione 1 a 2 e la metà circa della frazione solubile in etere è costituita da un acido grasso $C_{10}H_{18}O_3$ con struttura ciclica satura (da Decourt 1956, pg. 1506).

Jacoli e Poggioli (1956) riportano la composizione percentuale media della g. r. in diversi periodi di vita larvale relativa.

			24 h	48 h	72 h
x	Umidità	g %	66,400	68,930	69,900
x	Residuo secco	g %	33,600	31,070	30,200
xx	Ceneri	g %	2,850	2,270	2,000
xx	Proteine	g %	43,100	47,050	48,200
xx	Carboidrati	g %	44,650	38,900	38,800
xx	Grassi	g %	8,690	11,270	10,400

x - espressi in g % di sostanza fresca.
xx - espressi in g % di sostanza secca.

Secondo Ardry (1956, pag. 99) i risultati analitici dello studio fisico chimico della g. r. in grammi sarebbero i seguenti:

TABELLA

	secondo ARDRY		secondo CHAUVIN	secondo HAYDAK	secondo MELAMPY
Umidità (P_2O_5) . . .	66,75 %				
Umidità a 100° . . .	68,07 %			69,7/67,58	66,05
Estratto secco	31,93 %		33 ± 2	30,3/32,42	33,95
Conducibilità per $c = 0,05$ %	250.10^{-6} mhos		244 ± 8		
pH per $c = 1$ % . . .	3,75		3,6 — 3,7		
Tensione superficiale . .	52 dynes/cm²		51 ± 2		
	gelatina %	estratto secco %			
Insolub., NaCl 0,9 % . .	3,28	10,2			
Insolubile in acqua . .	4,0	12,5			
Zuccheri, in glucosio . .	8,46	26,4			12,49
Saccarosio	0,48	1,5			
Azoto non proteico . .	0,331	1,03			
Azoto totale	2,117	6,61	2,3 — 2,8	2,24 — 2,58	
Azoto totale proteico . .	1,785	5,57			
Azoto proteico solub. . .	1,31	4,09			
Proteine totali (N) . . .	11,15	34,9		14/16,1	12,34
Proteine (per pesata) . .	12,08	37,7			
Proteine solubili . . .	8,22	25,7			
Proteine insolubili . . .	3,40	10,6			
Lipidi totali	5,61	17,5		5,68/4,92	5,46
Colesterolo	0,067	0,21			
Fosfoaminolipidi . . .	0,430	1,34			
Fosforo totale solub. in acqua	1,075	3,36			
Ceneri	0,81	2,84		0,70/0,76	0,82

Secondo Alphandery (1937) che riprende i dati dell'analisi fatta da Aeppler su g. r. di 10.000 celle reali la composizione della gelatina reale sarebbe la seguente:

Acqua, dopo essiccazione a 100° C	24,15%	Zolfo totale	0,38%
Azoto totale	4,58%	Fosforo totale	0,67%
Proteine totali	30,62%	Ceneri	2,34%
Zucchero totale, sotto forma di destrosio . . .			11,70%
Zucchero totale, sotto forma di saccarosio . . .			3,35%
Estratti eterei			15,22%

Le vitamine e gli aminoacidi nella g. r.

La gelatina reale contiene varie vitamine, ma a questo proposito non sempre le opinioni dei vari AA. sono state concordi. Così, ad esempio, secondo quanto riporta Decourt (1956) mentre Hill e Burdet (1932) trovano presente la vitamina E, Mason e Melampy (1936), Schoorl (1936), Evans, Emerson ed Eckert (1937) sono di parere contrario, come Haydak e Palmer (1938) i quali però l'avrebbero trovata in quantità minime nel polline. Decourt (1956) riferisce inoltre che Haydak e Palmer (1940) con saggi biologici avrebbero dimostrato la presenza di vitamina B_1. La B_1 secondo Melampy e Jones (1939) citati da Townsend e Lucas (1940) sarebbe presente in quantità di 1-1,5 U.I. per grammo di g. r.. Haydak e Palmer (1942) secondo Butler (1949) affermano la presenza di vit. B_6 sia nel polline che nella pappa reale, ma nel polline in quantità dieci volte superiore.

Riportiamo nella tabella seguente i dati sulla composizione qualitativa e quantitativa in vitamine della g. r. riferiti dai seguenti Autori: Caillas (1954), Cheldelin e Williams (1942) e Haydak e Vivino (1950) riportati da Ardry (1956-a) e Jacoli e Poggioli (1956).

Vitamine	gamma per grammo di g. r. fresca			gamma per g di g. r. secca prelevata alla 72ª ora di vita larvale relativa
	secondo Caillas	secondo Cheldelin e Williams	secondo Haydak e Vivino	secondo Jacoli e Poggioli
Tiamina	da 2 a 6	6,6	1,2	20,66
Lattoflavina (riboflavina)	da 8 a 19	8,2	6,1	27,70
Piridossina	da 2,4 a 8	2,4		118,80
ac. pantotenico	da 200 a 240	89	180	537,90 (¹)
Biotina	da 1,7 a 3	1,7		
Inositolo	circa 100	100		
Ac. folico	da 0,20 a 0,35	0,2		
Ac. nicotinico	fino a 83			424,20
Amide nicotinica		59	101	
Ac. ascorbico	da 2 a 3			
Vit. E	non conosciuta ma ricca			
Vit. B_{12}				1,485

(¹) Dato l'alto tenore di acido pantotenico gli Autori hanno ricercato la presenza di coenzima A con risultato negativo.

Sul contenuto in aminoacidi della g. r. le ricerche di Pratt e House (1949) e quelle di Weawer e Kuiken (1951) riportate da De Groot (1953) e da Brangi-Pavan (1954) permettono di compilare la seguente tabella:

secondo Pratt e House			secondo Weaver e Kuiken (1)
Amino acido o derivati	Come composto libero	Come costituente di proteine	Percentuale di aminoacidi
Alanina	+	+	
Arginina	+	+	5,1
Acido aspartico	+	+	
Cistina	—	+	
Acido glutammico	+	+	
Glicina	+	+	
Istidina	—	—	2,2
Idrossiprolina	—	—	
Isoleucina e/o leucina	+	+	5,3-7,7
Lisina	+	+	6,7
Metionina	+	+	1,9
Fenilalanina	—	+	4,1
Prolina	+	+	
Treonina	—	+	4,0
Tirosina	+	+	
Triptofano	—	—	1,3
Valina	+	+	6,7
β-alanina	+		
Glutamina	+		
Taurina	+		
Sconosciuto	+		

(1) La composizione percentuale, secondo Weaver e Kuiken è molto somigliante a quella trovata per il polline ed è superiore al livello minimo richiesto per la nutrizione dell'ape, del topo e dell'uomo.

Pratt e House (1949) hanno isolato inoltre dalla g. r. un amino-composto di natura ignota, presente nel polline e nell'emolinfa della larva di Ape.

Proprietà biologiche della g. r.

La g.r. è stata studiata in questi ultimi decenni in relazione a numerose proprietà reali o presunte, manifestate in diversi campi della biologia.

Le sue proprietà farmacologiche e terapeutiche hanno dato lo spunto a una intensa attività di ricerche, purtroppo non sempre seriamente condotte.

Recentemente ad esempio (1953), case farmaceutiche hanno messo in commercio prodotti dichiarati come estratti di g.r. o soluzione di g.r. stabilizzata, i quali sarebbero dotati di proprietà di stimolazione generale e di ringiovanimento per l'organismo umano, nonchè crema per la pelle e confezioni di miele alla pappa reale. L'introduzione della g.r. in tali campi è stata accompagnata da una fioritura di pubblicazioni enfatiche e scientificamente inconsistenti apparse in vari Paesi; esse hanno avuto eco non contrario anche in Italia.

Sempre in campo farmacologico Ardry (1956) avrebbe constatato una costanza della composizione elementare del prodotto destinato agli usi farmaceutici. L'elettroforesi libera a pH 7,7 ha rivelato l'esistenza almeno di tre costituenti proteinici. Il potere antigenico sarebbe praticamente nullo.

Una serie di lavori italiani interessanti a carattere farmacologico è quella di Jacoli e coll.. Secondo Jacoli (1956) si può ritenere con buona certezza che nella g.r. non siano presenti ormoni corticali di natura glucocorticoide e che la sostanza è invece dotata di una notevole attività mineralcorticoide con il seguente titolo per grammo di sostanza fresca: 120 unità corticodinamiche topo (UCT) pari a 600 unità corticodinamiche cane (UCD). La g.r. non esplicherebbe inoltre alcuna attività androgena nei galli capponizzati.

Sempre secondo Jacoli (1956) lo studio dell'azione sulla pressione arteriosa del cane avrebbe portato alla conclusione che il principio ipotensivo nella g.r. è con grande verosimiglianza acetilcolina; la quantità di acetilcolina, con le riserve dovute al metodo impiegato che non è il più appropriato, sarebbe dell'ordine di mg 0,8-1,200 per grammo di sostanza fresca.

La prova dell'azione della g.r. sull'intestino isolato di cavia e di coniglio ha dato la dimostrazione che nella sostanza è contenuta acetilcolina in quantità dell'ordine di mg 1,20 per grammo di sostanza fresca.

Inoltre la prova dell'andamento delle curve ponderali in topolini

e ratti trattati con metodiche varie ha dimostrato che la g.r. incide positivamente sull'andamento della curva ponderale degli animali trattati.

Nello studio degli effetti della g.r. sull'evolversi della anemizzazione sperimentale nel ratto Jacoli ha visto che dopo il trattamento con la g.r. negli animali sopravvissuti nella prima fase della anemizzazione, si è gradatamente variato anzitutto l'andamento della crasi ematica con un progressivo ritorno alla norma. La ricerca è stata condotta a fondo con interessanti risultati istologici sui vari organi senza mettere in evidenza alterazioni provocate dalla sostanza. All'esame autoptico della maggior parte degli animali trattati la milza si presentava in forma ridottissima rispetto alla norma mentre si è notata un'epatomegalia.

In campo patologico umano Jacoli (1956) riferisce che sono state trattate varie forme di leucemia connesse con forte splenomegalia: i risultati hanno dimostrato una fortissima diminuzione dello stato splenomegalico nonchè riduzione degli elementi della serie bianca con progressivo ritorno verso valori quasi normali.

Gli studi ematologici dell'azione della g.r. effettuati da Ardry (1956-b) hanno messo in evidenza neutropenia e una reticulosi più sostenuta conseguente alla somministrazione intravenosa, intramuscolare o perlinguale della g.r.; questa sembra perdere la maggior parte della sua attività per via orale. E' stato dimostrato un antagonismo biologico immediato con l'ACTH, antagonismo che permette una misura del controllo dell'attività della g. r.. La sua azione terapeutica deve essere ricondotta a una attività accresciuta del linfoide e delle surrenali susseguenti a una fase iniziale di aggressione di queste ultime.

* * *

Una numerosa serie di esperienze sugli effetti biologici e fisiologici della g.r. su organismi e organi di Vertebrati, in particolare di Mammiferi, è stata condotta da diversi AA., in genere allo scopo di controllare l'azione della g.r. sulla fecondità e sulle manifestazioni sessuali degli animali.

Abbiamo già riferito gli studi di Jacoli (1956) sulla mancanza di attività androgena della g.r. su galli capponizzati e sulla sua azione positiva sull'andamento delle curve ponderali di topolini e ratti trattati; lo stesso Jacoli in collaborazione con Vitale (1956) ha dimostrato la mancanza di attività androgena della g.r. anche su ratti castrati.

Schielke (1955) riferisce i risultati del trattamento con g.r. secondo modalità varie a conigli, ratti, rospi, mucche, capre, trovando una buona digeribilità, aumento di emoglobina, diminuzione di caduta del pelo, stimolazione sessuale nel maschio, rifiuto di accoppiamento nella femmina e generazione di prole morta o mancata generazione, mentre in altre prove le femmine trattate in genere si mangiarono la prole. Il trattamento con g.r. della madre lattante produsse un aumento di peso nella prole ma non produsse aumento di secrezione lattea. Questi esperimenti condotti su animali vari e in un numero talvolta molto limitato di individui dovranno essere ripetuti e moltiplicati per poter assurgere a un valore e significato più generale.

Questo atteggiamento se non di critica, almeno di dubbio, è avvalorato dalla constatazione che altri autori hanno avuto risultati difformi. Ad esempio Giavarini (1956-a) riferisce che mentre Borchert afferma che la somministrazione orale e parenterale della g.r. eseguita su topi, conigli, capre e mucche ha dato ottimi risultati soltanto nei maschi, la cui fecondità è aumentata sensibilmente e non già nelle femmine nelle quali si determinano condizioni nettamente opposte, altri AA. giungono a conclusioni totalmente diverse. Secondo questi ultimi infatti la g. r. avrebbe azione stimolante anche sulle gonadi femminili, in misura tale da determinare la sua normale funzionalità anche in quelle femmine a menopausa ormai terminata. Heil avrebbe notato un ingrossamento dei follicoli di Graaf in femmine di topo preventivamente sottoposte ad iniezioni con soluzioni contenenti da 60 a 70 mg di g. r.

Con altre sperimentazioni in tale campo condotte da Semprini (1956) su *Bufo vulgaris* è stato dimostrato che la somministrazione di g.r. ai girini di questa specie di rospo non influisce sullo sviluppo somatico e non ha influenza sulla metamorfosi; i girini nelle vasche di allevamento contenenti g.r. sono divenuti meno vivaci e la quantità di alimento assunto è diminuita.

Saggi sull'azione della g.r. sulla vitalità di insetti sono stati effettuati su *Drosophila melanogaster*; l'azione della g.r. è consistita in un prolungamento della vita da 13 a 15 giorni con risultati opposti per somministrazione di quantitativi minori di g.r. Ugual risultato di prolungamento della vita è stato ottenuto con pantotenato di calcio e perciò si ritiene che l'effetto sia dovuto all'acido pantotenico (citato in Giavarini 1956-a).

* * *

La g.r. ha avuto anche qualche episodio di impiego in campo patologico umano oltre a quello precedentemente accennato, effettuato da Jacoli su forme di leucemia.

Così riferendosi al vecchio concetto della stimolazione dell'accrescimento osservato negli animali vi è chi ha applicato la g.r. in casi di denutrizione o di deficienza di sviluppo; per esempio Martinetti e Caracristi (1956) hanno osservato una azione eccito-metabolica in soggetti umani trattati con g. r.. Gli AA. rilevano che l'esiguità della dose di g.r., per quanto ricca di aminoacidi e proteine, non è sufficiente a spiegare l'azione eccito-metabolica e in via di ipotesi pensano che l'azione possa essere riferita a qualche complesso enzimatico capace di esaltare il biochimismo organico. Essi hanno poi osservato un netto sinergismo di potenziamento fra azione dinamico specifica del glucosio e quella della g. r.. In via di ipotesi essi ritengono che possa avvenire una aumentata trasformazione del glucosio in glicogeno per opera della g.r. con conseguente più spiccata azione eccito-metabolica.

In questo stesso ordine di sperimentazioni Malossi e Grandi (1956) applicando la g.r. nella alimentazione degli immaturi avrebbero ottenuto risultati che definiscono soddisfacenti e incoraggianti, concludendo che la g.r. sarebbe da interpretarsi quale integratore dell'alimento.

L'impiego della g. r. da parte di Prosperi, Ragazzini e Francalancia (1956) negli stati di denutrizione della prima infanzia ha condotto a risultati positivi nell'accrescimento ponderale dei trattati, con normalizzazione dei valori proteinemici e lipoprotidici e miglioramenti spiccati nella crasi ematica.

Izar (1956) osservando che l'acido pantotenico è noto quale componente della g. r. in quantità notevole e ricordando che l'avitaminosi pantotenica porta nel ratto con frequenza ulcerazioni duodenali, ha applicato la g. r. alla cura dell'ulcera duodenale e ha notato un miglioramento subiettivo ed obiettivo dei pazienti trattati, miglioramento rimasto immutato.

Telatin (1956) ha riferito poi i risultati sull'applicazione della g.r. in neuropsichiatria. I risultati dell'Autore si possono così riassumere: un miglioramento delle condizioni generali dell'organismo con aumento del peso corporeo, regolarizzazione del sistema neurovegetativo, normalizzazione dell'umore, maggior rendimento nel lavoro

fisico e nel lavoro intellettuale, maggiore agilità ed elasticità mentale attraverso un potenziamento delle varie funzioni psichiche. Questi risultati sono stati ottenuti con la g. r. liofilizzata sciolta al momento dell'uso in miele purissimo e con somministrazione per via orale. Bisogna avvertire che gli esperimenti sono stati fatti su un numero imprecisato di casi, numero che tuttavia non deve essere notevole in quanto lo stesso Autore avverte che la casistica non è numerosa.

Non ci si dilunga nella esposizione di altri casi di applicazione in campo patologico umano poichè in genere i fatti che si trovano nella letteratura sono poco probanti.

In questo campo di applicazioni resta ancora tutto da dimostrare prima di poter ritenere che la g.r. possa costituire veramente un prodotto di sicuro impiego in qualche campo pratico. Molti dei casi di cui è infarcita la letteratura a questo proposito non si discostano dai risultati tipici che si ottengono con la somministrazione di placebo e ciò specialmente quando sono chiamate in causa le reazioni psichiche dell'individuo e le manifestazioni fisiche da esse in qualche modo controllate.

Questo campo di sperimentazioni è ancora ben lungi dall'aver avuto una seria e approfondita impostazione. I clinici in genere hanno applicato la g.r. tal quale oppure estratti o preparazioni commerciali di tale sostanza senza conoscerne il contenuto chimico globale e tanto meno i singoli componenti.

Ovviamente questo tipo di sperimentazione non può essere condotto con la necessaria vastità e profondità in campo umano ma almeno potrebbe e dovrebbe essere svolto in campo animale; fa in parte eccezione la sperimentazione su *Drosophila melanogaster* che è stata condotta parallelamente sulla g.r. e sul pantotenato di sodio con uguale risultato, anche se ciò non dimostra in modo assoluto che l'azione della g. r. sia effettivamente dovuto al suo contenuto in acido pantotenico.

Si deve inoltre rilevare che anche a prescindere dalle applicazioni a scopo pratico in campo umano o animale e riferendoci solo alle proprietà biologiche della g.r. riscontrate in altri campi (ad esempio l'attività antibatterica) la ricerca non è mai pervenuta all'isolamento del fattore biologicamente attivo e che l'unico caso finora condotto fino a tale punto è quello relativo alla attività fitoinibente della g.r. sul quale riferiamo in breve nelle pagine seguenti.

* * *

E' noto che come il miele ed il propoli, anche la g.r. è dotata di attività antibatteriche. Mac Cleskey e Melampy (1938) hanno affermato che la g. r. possiede proprietà batteriostatiche e battericide verso alcune specie batteriche e precisamente: su *Escherichia coli* e *Salmonella typhi* alla concentrazione di 1/50 di g. r. nella brodocoltura; su *Staphylococcus aureus* e *Bacillus metiens* ad una concentrazione di 1/100. Questi AA. hanno potuto constatare che la temperatura influenza il potere antibatterico: a 43-45°C i germi vengono uccisi in 15″, a 23-25°C in 10′-30′, a 5°C in 2 giorni. Inoltre neutralizzando l'acidità della g.r. hanno visto che la sua azione antibatterica va rapidamente diminuendo. Essi riferirono di aver ottenuto mediante estrazione acetonica e alcoolica il principio antibatterico della g.r. allo stato cristallino, però detti AA. non hanno fornito alcun dato atto a caratterizzare in qualche modo la sostanza; a questo proposito noi sappiamo che con una semplice estrazione acetonica o alcoolica, dall'evaporazione del solvente si ottiene un residuo costituito da una miscela solida di numerose sostanze.

Vergè (1951) riprendendo lo studio delle proprietà antibatteriche della g.r. ha ottenuto risultati positivi verso *E.coli* e *Bacillus prodigiosus* e inoltre ha confermato la progressiva riduzione dell'attività antibatterica con la neutralizzazione, per cui, secondo Vergè, la sostanza antibatterica ottenuta da Mac Cleskey e Melampy sarebbe un acido.

Hinglais e Gautherie (1955) hanno trovato che la g.r. ha un'attività battericida su *Staphylococcus aureus* e *Proteus vulgaris,* e più recentemente Hinglais e Coll. (1955) hanno trovato che anche sul ceppo umano di *Mycobacterium tuberculosis* la g.r. esercita attività battericida e antibiotica. Nell'ultima nota gli AA. preannunziano di aver in corso ricerche per l'isolamento del fattore attivo; nella letteratura che ci è nota non si trovano però altre notizie utili a caratterizzare meglio il principio attivo, argomento che merita senza dubbio di essere controllato e approfondito sotto molteplici interessanti aspetti.

Nella sperimentazione di Pavan (1958) a questo proposito abbiamo un dato negativo e cioè che il *principio fitoinibitore* da lui isolato nella proporzione di 1: 250 rispetto alla g.r. fresca, agente sui germinelli di *Lupinus albus,* non esercita una attività inibitrice dello sviluppo sui seguenti ceppi batterici: *Bacterium coli, Eberthella ti-*

phosa, Salmonella paratyphi A, Salmonella paratyphi B, Bacillus anthracis, Staphylococcus aureus, Mycobacterium phlei, Mycobacterium avium, Mycobacterium Minetti.

Il principio fitoinibente presenta inoltre le seguenti proprietà: è solubile in etere, acqua, benzolo, metiletilchetone; insolubile in tetracloruro di carbonio; resistente a 120°C per 10 minuti senza perdita di attività; può presentarsi in due forme cristalline con punti di fusione rispettivamente di 42-45°C, 52-57°C. La sua attività fitoinibente è debole rispetto a molti fitoinibitori noti; risulta privo di attività insetticida per contatto su neanidi di *Acheta domestica* L.

Poichè le ricerche sono tutt'ora in corso e su di esse si ha finora soltanto una nota preliminare, non ci estendiamo sull'argomento, in attesa di conoscere i dati sulla indagine biologica, farmacologica, chimica, ecc. preannunziata nel suddetto lavoro di Pavan.

Conclusioni.

La rapida rassegna della letteratura della pappa reale ci consente di valutare a quale punto sono giunti gli studi nei vari campi di ricerca ad essa inerenti.

Le analisi chimiche e fisiche della g.r. hanno dimostrato che la sua composizione varia per la percentuale delle sostanze componenti, in relazione colle diverse età delle larve alle quali viene somministrata dalle nutrici e colla diversa provenienza dei campioni di g. r. esaminati.

In merito alle differenze di composizione dipendenti dalle diverse età e dalla diversità di casta delle larve alle quali la g.r. viene somministrata come alimento, sembra si debba ritenere che tali variazioni siano in relazione coll'evoluzione fisiologica e coll'età delle nutrici; il che comporta la possibilità di correlazioni neuroumorali nel determinismo della composizione della secrezione al fine di giungere agli scopi ben determinati cui essa è destinata.

Le significative differenze di composizione trovate in campioni di g.r. atti alla nutrizione di uno stesso stadio larvale ma di diversa provenienza, potrebbero attribuirsi invece a cause varie: in parte alle diverse tecniche di prelevamento e di conservazione della g.r. stessa ma principalmente a particolari costituzioni fisiologiche dei ceppi delle api dai quali la gelatina proviene, nonchè ad altri fattori come condizioni generali della famiglia di api, epoca di raccolta, variazioni metereologiche in genere, agenti sull'attività di elaborazione e secrezione

delle glandole faringee, e infine a diversi tipi di alimentazione ai quali la secrezione può essere legata biochimicamente.

A tal riguardo resta da definire il ruolo che possono avere nella composizione della g.r. le sostanze direttamente provenienti dai prodotti vegetali ingeriti dall'ape stessa. Per ora non si hanno dati che permettono di distinguere fra secrezioni veramente elaborate dall'organismo dell'ape e sostanze provenienti eventualmente senza alterazioni dalla alimentazione oppure appositamente raccolte dalle api stesse per la formazione della g.r.

Riassumendo i dati delle ricerche chimiche riportate, si può affermare che nella g.r. sono stati messi in evidenza alcuni gruppi di sostanze di elevato valore per l'alimentazione delle larve di ape, sostanze significative anche come agenti biologici ad azione varia sugli organismi animali in genere; troviamo ad esempio diverse vitamine e molti aminoacidi, nonchè varie altre sostanze non comprese nei precedenti raggruppamenti.

In merito agli studi sulle proprietà biologiche della g. r. occorre notare la mancanza di nozioni precise sul valore spettante ai vari suoi componenti nella determinazione perfino della sua proprietà biologica fondamentale, che è quella di sviluppare le larve normali in larve destinate a dare regine; manchiamo anche di conoscenze sui meccanismi biologici attraverso i quali questi principi agiscono sulle larve per le quali la g.r. è specialmente elaborata. Interpretazioni non sufficientemente fondate del significato della g.r. in natura, hanno stimolato talora ricerche sulla sua attività biologica in campo medico e farmacologico, rivolte a realizzare scopi del tutto particolari e non sempre giustificati. Inoltre la frammentarietà o l'assenza completa di dati sulla costituzione chimica dei campioni di g.r. usati per le sperimentazioni in campo medico e farmacologico sovente non permettono di attribuire ai risultati il significato di preciso dato sperimentale utilizzabile per studi successivi. Pertanto, salvo casi contrari, il complesso di ricerche svolto fino ad oggi, i cui risultati sono talvolta contrastanti o poco attendibili anche per la scarsità della casistica, permette soltanto di ritenere probabile l'esistenza di alcune interessanti proprietà biologiche della g.r. che restano ancora da confermare e studiare. Sulle presunte proprietà della g.r. in estetica e cosmesi femminile non sembra si possa fare affidamento su quanto è stato asserito sino ad oggi con metodi e intenti esclusivamente propagandistici.

Sperimentazioni effettuate con campioni di g.r. fresca e con campioni di g.r. conservata hanno dimostrato inoltre che certi suoi componenti, considerati nei riguardi delle proprietà biologiche e farmacologiche, si dimostrano talora assai labili; ciò pone notevoli difficoltà sulla utilizzazione pratica della sostanza totale. D'altra parte non essendo noti i principi responsabili di presunte proprietà per le quali essa verrebbe impiegata, le preparazioni estrattive restano in campo impreciso.

A questo proposito si rileva l'opportunità che per il futuro le ricerche, che hanno già dato in un caso un risultato positivo con l'isolamento del principio fitoinibitore, debbano essere continuate ed estese anche con la metodica di tests biologici, al fine di riconoscere i fattori responsabili delle proprietà riscontrate o presunte o le associazioni dei diversi fattori necessari a determinare le proprietà stesse.

Da quanto abbiamo visto si può concludere che i vari temi di studio della g.r. in diversi campi della biologia, chimica, terapia, ecc., allo stato attuale delle ricerche, sono appena affrontati e per una proficua prosecuzione delle indagini occorre che future ricerche restino ancora e a lungo in un campo strettamente scientifico.

BIBLIOGRAFIA

Abbot O. D., French R. B., 1940. — Chemical composition and nutritive values of several Florida honeys and royal jelly. Fla. Agr. Expt. Sta. Ann. Report, 78, 9. (citato da Decourt 1956 a pag. 1506).

Abbot O. D., French R. B., 1941. — Fla. Agr. Expt. Sta. Ann. Report, 77. (Citato da Decourt 1956 a pag. 1506).

Alphandery E., 1937. — Trattato completo di apicoltura. Ed. S.T.A.G., Trento: 1-837.

Ardry R., 1956. — Contribution à l'étude de la gelée royale. I - Caractères physico-chimiques et immunologiques. Annales pharm. franc., 14 (2): 97-102.

— 1956 (a). — Contribution à l'étude de la gelée royale. II - Étude histochimique. Annales pharm. franc., 14 (2): 102-107.

— 1956 (b). — Contribution à l'étude de la gelée royale. III - Étude hématologique. Annales pharm. franc., 14 (2): 107-118.

Borchert — (citato da Giavarini 1956 (a), a pag. 32).

Brangi G. P., Pavan M., 1954. — Sulle proprietà antibatteriche del miele, propoli, pappa reale e veleno di *Apis mellifera* L., Mem. Soc. Ent. It., 33: 19-32.

BUTLER G. C., 1949. — The honeybee. An introduction to her sense-physiology and behaviour. The Clarendon Press. Oxford: 1-139.

BUTLER G. C., 1955. — The World of the Honeybee. Macmillan, New York (citato da N. Weaver 1955 a pag. 509).

CAILLAS A., 1954. — La Gelée Royale - Naturalia, Paris, (9): 14-18.

CHELDELIN V. H., WILLIAMS R. J., 1942 - The B vitamin content of foods. Univ. Texas Publ., 4237: 105-124. (citato da Ardry 1956 (a) a pag. 102-103).

DECOURT P., 1956. — La Gelée Royale d'Apis Mellifica et son activité chez les vertébrés supérieurs. Rev. Path. Gén. et Phys. Clin., (682): 1495-1520.

— 1956 (a). — La Gelée Royale d'Apis Mellifica et son activité chez les vertébrés supérieurs. Rev. Path. Gén. et Phys. Clin., (682): 1641-1663.

DE GROOT A. P., 1953. — Protein and aminoacid requirements of the honeybee (*Apis mellifica* L.) Phys. Comp. et Oecol., 3 (2-3): 197-285.

EVANS H. M., EMERSON G. A., ECKERT I. E., 1937. — Alleged vitamin E content of royal jelly. J. Econ. Entomol., 30: 642-646. (citato da Decourt 1956 a pag. 1509).

FOSSATI L., 1955. — La pappa reale ed altre meraviglie delle api. Natura, Milano, 46 (1): 21-29.

GIAVARINI I., 1956. — I prodotti delle api nella dietetica e nella terapia infantile. La Clinica Pediatrica, Bologna, 38 (9): 1-14.

— 1956(a). — I prodotti delle Api nel campo medico-biologico. Atti del 1° Convegno Nazionale per lo studio dell'applicazione dei prodotti delle Api nel campo medico-biologico. Bologna: 22-33.

GRANDI G., 1951. — Introduzione allo studio dell'Entomologia. Ed. Agricole, Bologna, 2 vol.: 1-950, 1-1332.

HAYDAK M. H., 1934. — J. Agric. Res. 49. 21-8 (citato da Butler 1949 a pag. 7).

HAYDAK M. H., PALMER L. S., 1938. — Vitamin E content of royal jelly and bee bread. J. Econ. Entomol., 31:576. (citato da Decourt 1956 a pag. 1509).

HAYDAK M. H., PALMER L. S., 1940. — Vitamin content of bee foods. II. Vitamin B_1 content of royal jelly and bee bread. J. Econ. Entomol., 33:396. (citato da Decourt 1956 a pag. 1509).

HAYDAK M. H., PALMER L. S., 1942. — Royal jelly and bee bread as sources of vitamins B_1, B_2, B_6, C, and nicotinic and pantothenic acids. J. Econ. Entomol., 35: 319-320. (citato da Butler 1949 a pag. 83 e da Decourt 1956 a pag. 1509).

HAYDAK M. H., VIVINO A. E., 1950. — The changes in the thiamine, riboflavin niacin and pantothenic acid content in the food of female honeybees during growt with a note on the vitamin K activity of royal jelly and bee bread. Ann. Ent. Soc. Amer., 43: 361-367. (Citato da Ardry 1956 (a) a pag. 102-103).

HEIL. — (citato da Giavarini 1956(a), a pag. 32).

HILL L., BURDETT E. F., 1932. — Fertility of bees and vitamin E. Nature, Lond. 130:540. (Citato da Decourt 1956, a pag. 1509).

HINGLAIS H. et M., GAUTHERIE J., 1955. — C. R. Soc. Biol. (citato da Hinglais M. et H., Gautherie J. et Langlade M., 1955 a pag. 684).

HINGLAIS H. et M., GAUTHERIE J., LANGLADE M., 1955. — Étude du puvoir microbicide et du puvoir antibiotique de la gelée royale sur le bacille de Koch. Ann. Institut Pasteur, 89 (1) : 684-686.

IZAR G., 1956. — Gelatina reale nella terapia dell'ulcera duodenale. Atti del I Convegno Nazionale per lo studio dell'applicazione dei prodotti delle Api nel campo medico-biologico. Bologna: 137-138.

JACOLI G., 1956. — Ricerche sperimentali su alcune proprietà biologiche della gelatina reale. Estratto da l'Apicoltura d'Italia, 23 (9-10): 211-214.

JACOLI G. G., POGGIOLI A., 1956. — Ricerche sulla composizione e sul contenuto in vitamine della gelatina reale della zona Emilia-Romagna. Boll. Soc. It. Biol. Sper., 32 (1): 3-6.

JACOLI G. G., VITALE G., 1956. — Ricerche sull'attività protido-anabolica e androgena della gelatina reale. Boll. Soc. It. Biol. Sper., 32 (9): 1136-1138.

MAC CLESKEY C. S., MELAMPY R. M., 1938. — Bactericidal activity of royal jelly of the Honeybee - J. Bact. 36: 324.

MALOSSI G., GRANDI F., 1956. — Osservazioni sulla gelatina reale nella alimentazione degli immaturi. Atti del I Convegno Nazionale per lo studio dell'applicazione dei prodotti delle api nel campo medico-biologico. Bologna: 130-133.

MARTINETTI R., CARACRISTI R., 1956. — Azione eccito-metabolica della gelatina reale nell'uomo. Atti del I Convegno Nazionale per lo studio dell'applicazione dei prodotti delle Api nel campo medico-biologico. Bologna: 139-144.

MASON K. E., MELAMPY R. M., 1936. — Absence of vitamin E in the royal jelly of bees. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., N. Y., 35: 459-463 (citato da Decourt 1956 a pag. 1509).

MELAMPY R. M., JONES D. B., 1939. — Chemical composition and Vitamin content of royal jelly of bees. Proc. Soc. Expt. Biol. Med., 41: 382-388 (citato da Decourt 1956 a pag. 1503-1504 e da Townsend e Lucas 1940 a pag. 1156).

PARDI L., 1950. — Recenti ricerche sulla divisione del lavoro negli Imenotteri sociali. Atti Convegno Cinquantenario U.Z.I. (Suppl. al Boll. Zool. 17): 19-66.

PAVAN M., 1958. — Primi dati e isolamento di un fattore fitoinibitore della gelatina reale. Atti Soc. It. Sc. Nat., 97 (2): 163-166.

PRATT J., HOUSE H. L., 1949. — A qualitative Analysis of the Amino Acids in Royal Jelly - Science, 2844, 110: 9-10.

PROSPERI P., RAGAZZINI F., FRANCALANCIA L., 1956. — Sull'impiego terapeutico della pappa reale delle api negli stadi di denutrizione della prima infanzia. Atti del I Convegno Naz. per lo studio dell'applicazione dei prodotti delle Api nel campo medico-biologico. Bologna: 134-136.

REALI G., 1955. — Un semplice e pratico metodo per stimolare la produzione di pappa reale nelle Api. Boll. Zool. Agr. e Bachicoltura, Milano, 21 (1): 35-38.

RHEIN W., 1933. — Ueber die Entsthehung des Weiblichen Dimorphismus im Bienenstaate. Wilk. Roux Arch. Entwicklungs mechanic. Org. Abt. D. Z. Wiss Biol., 1929, 601. (citato da Decourt 1956 a pag. 1511-1512).

RÖSCH, 1925-1930. — (citato da Grandi 1951 a pag. 1267 del vol. II).

SCHIELKE G., 1955. — Ueber die biologische und physiologische Wirkung des Weiselfuttersaftes auf Saugetiere. Leipziger Bienenzeitung 69: 180.

SCHOORL P., 1936. — Vitamin E research. Z. Vitamin forsch. 5: 246-253. (citato da Decourt 1956 a pag. 1509).

SEMPRINI P., 1956. — Influenza della gelatina reale sullo sviluppo e sulla metamorfosi dei girini di *Bufo vulgaris*. Boll. Soc. Biol. Sperim., 32 (7-8): 557-558.

TELATIN L., 1956. — Proprietà terapeutiche della gelatina reale in neuropsichiatria. Atti del I Convegno Naz. per lo studio dell'applicazione dei prodotti delle Api nel campo medico-biologico. Bologna: 150-153.

TOWNSEND G. F., LUCAS C. C., 1940. — The chemical nature of royal jelly. Bioch. J., 34 (2): 1155-1162.

VERGÉ J., 1951. — L'Activité antibacterienne de la propolis, du miel et de la gelée royale. Apiculteur (estr.: 1-10).

WEAVER N., 1955. — Rearing of Honeybee Larvae on Royal Jelly in the Laboratory. Science, 121 (3145): 509-510.

WEAVER N., KUIKEN K. A., 1951. — Quantitative analysis of the essential amino acids of royal jelly and some pollens. J. Econ. Ent., 44: 635-638 (citati da Brangi-Pavan 1954 a pag. 24 e da De Groot 1953).